

le differenze genetiche tra diversi isolati fungini. Essi sono caratterizzati da sequenze ripetute di poche paia di basi che determinano degli errori da parte dell'enzima DNA polimerasi in fase di duplicazione del DNA, aumentando la variabilità genetica. Nove regioni microsatelliti all'interno del genoma di *A. fumigatus* sono stati amplificati mediante PCR evidenziando una elevata variabilità genetica anche all'interno della stessa popolazione. Tutti gli isolati sono risultati suscettibili a diversi azoli. Solo un isolato ha mostrato una ridotta sensibilità a un fungicida azolico usato nei trattamenti medici. Il gene *Cyp51A* associato alla sensibilità agli azoli è stato quindi sequenziato. Sei mutazioni sono state rilevate ma nessuna di esse è coinvolta nella resistenza agli azoli. La totale sensibilità agli azoli dei ceppi isolati da compost e da substrati commerciali di coltura indica come questi substrati non rappresentino una minaccia per lo sviluppo di resistenza a fungicidi in *A. fumigatus* (Santoro *et al.*, 2017).

Ringraziamenti

Il presente lavoro è stato svolto con il contributo del progetto "Giuseppe Boccuzzi Memorial".

Lavori citati

HOWARD S. J., CERAR D., ANDERSON M. J., ALBARRAG A., FISHER M. C., PASQUALOTTO A. C., LAVERDIERE M., ARENDRUP M. C., PERLIN D. S., DENNING D. W. (2009) - Frequency And Evolution Of Azole Resistance In *Aspergillus Fumigatus* Associated With Treatment Failure. *Emerging Infectious Diseases*, 15 (7), 1068–76.

NIEMINEN S. M., KÄRKI R., AURIOLA S., TOIVOLA M., LAATSCH H., LAATIKAINEN R., HYVÄRINEN A., VON WRIGHT A. (2002) - Isolation And Identification Of *Aspergillus Fumigatus* Mycotoxins On Growth Medium And Some Building Materials. *Applied And Environmental Microbiology*, 68, 4871–4875.

SANTORO K., MATIC S., GISI U., SPADARO D., PUGLIESE M., GULLINO M. L. (2017). Abundance, Genetic Diversity And Sensitivity To Demethylation Inhibitor Fungicides Of *Aspergillus Fumigatus* Isolates From Organic Substrates With Special Emphasis On Compost. *Pest Management Science*, 73, 2481-2494.

Impiego della termoterapia e integrazione con oli essenziali per il contenimento di marciumi in post-raccolta

Karin Santoro** - Davide Spadaro**** - Maria Lodovica Gullino**** - Angelo Garibaldi****

**Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari DISAFA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)*

***Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale AGROINNOVA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)*

La termoterapia rappresenta uno dei mezzi fisici non inquinanti e immediatamente disponibili per la lotta ai patogeni in post-raccolta. Essa si basa sull'uso dell'acqua calda (massimo 60 °C) per un breve periodo di tempo per limitare lo sviluppo di patogeni in fase di conservazione, trasporto e vendita al dettaglio di alimenti altamente deperibili come frutta e ortaggi. L'acqua calda ha una duplice funzione: esplica un'azione curativa sulle ferite, allontanando fisicamente le spore fungine eventualmente presenti e favorisce la cicatrizzazione dei tessuti. Inoltre, lo shock termico induce una risposta nel frutto che lo rende meno suscettibile agli attacchi fungini (Fallik, 2004).

Diverse strategie sono state studiate negli ultimi anni per ridurre le perdite di prodotto, che in alcuni areali possono arrivare fino al 50% della produzione (FAO, 2011). L'uso dei fungicidi in post-raccolta viene sempre più disincentivato dalle politiche internazionali, con la messa al bando dell'applicazione su alcune tipologie merceologiche. Le motivazioni di tali politiche risiedono nella possibilità di sviluppo di resistenza da parte dei patogeni e nella pericolosità dei residui chimici per la salute umana (Vandendriessche *et al.*, 2012). I composti chimici usati nella lotta ai patogeni potrebbero avere degli effetti teratogeni, cancerogeni e di tossicità acuta. Possono perciò essere pericolosi sia per l'operatore che maneggia le sostanze, sia per il consumatore a causa del lungo periodo di degradazione che determina la presenza di residui pericolosi sulle parti eduli (Unnikrishnan e Nath, 2002).

L'uso dell'acqua calda evita tutte le problematiche descritte, ma necessita dell'ottimizzazione delle modalità di applicazione, dei tempi e delle temperature per massimizzare l'efficacia del trattamento evitando i danni fisiologici al frutto per eccesso di calore.

Gli oli essenziali rappresentano un potente mezzo per la lotta ai patogeni post-raccolta di pomacee e drupacee. L'efficacia di questi prodotti naturali è stata studiata *in vitro*, ma solo pochi di essi sono stati applicati *in vivo* per valutare l'applicabilità in condizioni pratiche. Gli oli essenziali di timo e santoreggia sono stati utilizzati con successo come biofumiganti contro il marciume bruno causato da *Monilinia fructicola* su nettarine e pesche. Inoltre, gli oli essenziali hanno mostrato un

ruolo positivo nel rallentare i processi di senescenza e ridurre la perdita di peso. L'attività antimicrobica degli oli essenziali, utile per combattere i patogeni fungini, è dovuta principalmente alla sinergia di diversi componenti chimici. Le mele trattate con olio essenziale di timo alla concentrazione dell'1% in volume hanno mostrato una minore incidenza di malattie di muffa grigia causata da *Botrytis cinerea*. Oltre all'inibizione diretta della crescita degli agenti patogeni, gli oli essenziali partecipano anche all'induzione della resistenza nell'ospite. L'espressione del gene correlato alla patogenesi PR-8 è leggermente più elevata in risposta all'applicazione di olio essenziali di timo. La difficoltà delle tecniche alternative per ottenere gli stessi risultati dei fungicidi sintetici può essere superata con trattamenti integrati. Gli effetti della termoterapia in combinazione con oli essenziali sono stati saggiati contro lo sviluppo di *Penicillium expansum* su mele cv. Golden. L'uso di olio essenziale di timo anche a concentrazioni molto basse ha prodotto un effetto favorevole che ha aumentato l'efficacia della termoterapia. La migliore combinazione di temperatura e olio essenziale è 50 °C e olio essenziale di santoreggia a 0,1 e 0,5% che inibisce la crescita dei patogeni con risultati abbastanza simili alla soluzione di tebuconazolo senza danni al frutto. Gli effetti sinergici sono stati dimostrati anche nei confronti di *M. fruticola* e *M. laxa*. I migliori risultati sono stati ottenuti con trattamento combinato di acqua calda da 52 °C e oli essenziali di timo e santoreggia al 2% contro *M. fruticola*. La crescita di *M. laxa* è stata inibita con successo a 48 °C in combinazione con olio essenziale di santoreggia al 2% e 52 °C e olio essenziale di timo al 2%.

Ringraziamenti

Il presente lavoro è stato svolto con il contributo del progetto "LIFE.SU.SA.FRUIT - Low pesticide IPM in sustainable and safe fruit production", finanziato dall'Unione Europea. (LIFE13 ENV/HR/000580)

Lavori citati

- FAO (2011) - Global food losses and food waste – Extent, causes and prevention. Rome.
- FALLIK E. (2004) - Prestorage hot water treatments (immersion, rinsing and brushing). Postharvest Biology and Technology, 32, 125–134.
- UNNIKRISHNAN V., NATH B. S. (2002) - Hazardous chemicals in foods. Indian Journal of Dairy and Bioscience, 11, 155–158.
- VANDENDRIESCHE T., KEULEMANS J., GEERAERD A., BART M., NICOLAI B. M., HERTOOG M. L. (2012) - Evaluation of fast volatile analysis for detection of *Botrytis cinerea* infections in strawberry. Food Microbiology, 32, 406–414.

Quantificazione di ocratossina A in diverse matrici alimentari mediante biosensori a cantilever

Karin Santoro** - Davide Spadaro**** - Maria Lodovica Gullino***** - Angelo Garibaldi**** - Carlo Ricciardi****

**Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari DISAFA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)*

*** Dipartimento di Scienza Applicata e Tecnologia DISAT – Politecnico di Torino - Torino*

****Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale AGROINNOVA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)*

L'ocratossina A (OTA) è un metabolita fungino che può contaminare un ampio numero di matrici alimentari rappresentando un grave pericolo per la salute umana. Nel 1993, l'agenzia internazionale per la ricerca sul cancro (IARC) ha classificato questa micotossina come potenzialmente cancerogena per l'uomo. OTA è prodotta principalmente da funghi appartenenti al genere *Aspergillus* (in particolare *A. ochraceus* e *A. carbonarius*) e *Penicillium* (*P. verrucosum*). Queste specie sono ubiquitarie e capaci di crescere su diversi materiali vegetali e in differenti condizioni climatiche; per questo motivo il rischio di contaminazione da OTA è diffuso a livello mondiale (Magan e Aldred, 2007). La micotossina può essere rilevata come contaminante naturale in diversi alimenti quali cereali, birra, vino, cacao, caffè, frutta secca e disidratata, spezie (Benites *et al.*, 2017). L'esposizione umana all'OTA è principalmente dovuta al consumo di tre alimenti: cereali, vino e caffè (Coronel *et al.*, 2012). L'unione europea ha stabilito dei limiti massimi di presenza di OTA negli alimenti associati a un elevato rischio di contaminazione (Regolamento CE 1881/2006).

I tradizionali metodi di analisi per la quantificazione delle micotossine sono altamente sensibili, ma molto onerosi perché richiedono personale altamente qualificato e strumenti costosi. Questi metodi sono basati su tecniche cromatografiche come Thin-Layer Chromatography (TLC), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) con rilevatore a fluorescenza o in massa. Gli effetti nocivi dell'OTA sull'uomo hanno spinto la ricerca a sviluppare metodi innovativi, altamente sensibili, veloci e accurati per la quantificazione della molecola. Con il presente lavoro abbiamo dimostrato la possibilità di utilizzare un nanobiosensore a cantilever per il rilevamento della micotossina in diverse matrici alimentari. I cantilever sono delle travi vincolate a un'estremità caratterizzati da una frequenza di risonanza dipendente dalla massa della trave stessa. Attivando la superficie del cantilever con anticorpi anti-OTA la massa del cantilever aumenta in presenza della micotossina. L'aumento della massa è determinata dalla variazione della frequenza di risonanza, che viene monitorata prima e dopo il legame con l'analita per poter quantificare la molecola cercata. La molecola è stata rilevata con successo dai cantilever in diverse matrici ali-